

# Alelos HLA-DQB1 y DRB1 asociados con la enfermedad celíaca en pacientes hospitalarios

*Mag. Rossana Carolina Poggio Favotto<sup>1</sup>,  
Dra. Adriana Beatriz Mimbacas<sup>2</sup>, Dra. Beatriz Crispino<sup>3</sup>,  
Dra. Clara Jasinski<sup>4</sup>, Dr. Horacio Cardoso<sup>5</sup>*

## Resumen

*La enfermedad celíaca (EC) es una afección autoinmune que presenta asociación con determinados genes del sistema HLA. Se ha descrito que ciertas variantes (alelos) HLA de clase II DQ y DR están involucradas en la susceptibilidad primaria de esta enfermedad. La frecuencia de los alelos HLA varía entre los diferentes grupos étnicos. La población actual de nuestro país presenta características étnicas particulares y, hasta el momento de realizado este trabajo, no se conocía la asociación de estos alelos con la enfermedad. Se presentan, por tanto, los datos obtenidos mediante determinación molecular de alelos HLA de clase II de cadena beta DQ y DR para una muestra total de 37 individuos (pacientes y controles). Se calculó el riesgo relativo (RR) y la fracción etiológica (FE) para cada alelo, genotipo y haplotipo DQB1-DRB1. Se determinó que los alelos DQB1\*0201 y DRB1\*03 están positivamente asociados a los pacientes (RR=10,7,  $p<0,001$  y RR=13,  $p<0,001$  respectivamente). Cuando se analizaron los haplotipos, fue precisamente la combinación de estos alelos la que presentó una asociación positiva con la EC. Estos resultados permitieron establecer que, si bien existe mezcla étnica en nuestra población, los alelos involucrados en la susceptibilidad de la enfermedad celíaca son los mismos a los descritos en la literatura variando la frecuencia y, por lo tanto, el riesgo asociado a cada alelo.*

**Palabras clave:** *Enfermedad celíaca - genética.  
Alelos.*

1. Magister en Biología. Becaria de la División Citogenética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay.

2. Doctora en Biología. Asistente Grado 2, Unidad Asociada, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay; Investigador Asistente Asociado, División Citogenética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay.

3. Médico Genetista. Asistente Grado 3, División Citogenética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay.

4. Médico Gastroenterólogo-Pediatra. Prof. Adjunto de Pediatría.

Jefe de Gastroenterología Pediátrica. Clínica Pediátrica "B". Hospital Pereira Rossell. Montevideo, Uruguay.

5. Médico Genetista. Jefe de la División Citogenética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay.

**Correspondencia:** Mag. Rossana Poggio. Instituto Clemente Estable. Avenida Italia 3318. CP 11600. Montevideo. Uruguay.

E-mail: rossana@iibce.edu.uy

Financiado por: Laboratorio Roche, Uruguay; División Citogenética IIBCE; PEDECIBA.

Recibido: 6/3/01.

Aceptado: 3/8/01.

## Introducción

La enfermedad celíaca (EC) se define como una intolerancia permanente a determinadas proteínas componentes del gluten de trigo, cebada, centeno y avena, la cual origina una lesión severa de la mucosa del intestino delgado superior<sup>(1-3)</sup>. Es una de las principales causas de mala absorción intestinal en los países desarrollados. Se ha determinado que la prevalencia de esta enfermedad en Europa se caracteriza por presentar una amplia gama comprendida entre 1/300 y 1/8.000<sup>(4-7)</sup>. Como factor desencadenante se ha identificado una proteína monomérica denominada  $\alpha$  gliadina, componente de la fracción soluble del gluten. Se postula como mecanismo hereditario un modelo multifactorial donde están implicados muchos genes y factores ambientales en su expresión fenotípica<sup>(8,9)</sup>.

Al igual que otras afecciones de base autoinmune, la EC presenta una fuerte asociación con determinadas variantes (alelos) de las moléculas del sistema HLA de clase II<sup>(10)</sup>. Estas moléculas son glucoproteínas que se encuentran presentes en la membrana plasmática formando heterodímeros (unión no covalente de una cadena alfa ( $\alpha$ ) y otra beta ( $\beta$ )). Los genes que codifican para cada una de las cadenas expresan, en forma codominante, los dos alelos, dando como resultado la expresión de por lo menos seis moléculas de clase II en la membrana celular para un individuo heterocigota DR, DQ, y DP<sup>(11)</sup>. Todos los estudios realizados a nivel molecular indican que la susceptibilidad de la EC está primeramente asociada con la codificación en *cis* (en el mismo cromosoma) o *trans* (en distintos cromosomas) del heterodímero DQ2 (DQA1\*0501-DQB1\*02), encontrándose presente en más de 95% de los pacientes. El heterodímero DQ8 (DQA1\*0301-DQB1\*0302) también predispone a la enfermedad, pero es menos frecuente, encontrándose en 5% de los pacientes<sup>(12)</sup>.

En Uruguay, los datos de un estudio epidemiológico realizado indican una incidencia de 1 en 2.000 nacimientos para esta enfermedad<sup>(13)</sup>, lo que haría –para una población de tres millones doscientos mil habitantes– un total de 1.600 individuos susceptibles de padecerla. Teniendo en cuenta nuestra tasa de natalidad (aproximadamente de 56.000 nacimientos por año)<sup>(14)</sup>, se esperaría detectar alrededor de 35 niños potencialmente celíacos por año. Si bien existe abundante información en la literatura sobre la relación existente entre HLA y EC, no se ha publicado en nuestro país, hasta el momento, ningún trabajo sobre la frecuencia de los alelos HLA de clase II asociados con esta enfermedad.

Desde el punto de vista tanto antropológico como genético, nuestra población actual ha resultado de una mezcla de los distintos grupos poblacionales que la originaron (caucásicos, negros y amerindios)<sup>(15)</sup>.

El objetivo de este trabajo fue establecer las asociaciones de los alelos del sistema de antígenos de leucocitos humanos (HLA) con la enfermedad celíaca en nuestro país.

La combinación de estos alelos así como sus frecuencias difieren en las distintas poblaciones. Es, por tanto, de suma importancia caracterizar a la población uruguaya ya que el riesgo relativo que presentan determinados alelos en otras poblaciones no es necesariamente extrapolable.

## Material y método

La identificación de los alelos HLA se realizó mediante el empleo de técnicas moleculares. Se estudiaron un total de 37 individuos: 1) 17 pacientes, niños menores de 12 años provenientes de la Policlínica de Gastroenterología del Hospital Pereira Rossell con diagnóstico de EC confirmado por tres biopsias intestinales (criterio de ESPGAN); 2) 20 controles, seleccionados mediante muestreo aleatorio de un banco de ADN de 500 individuos que pertenece a la División Citogenética del IIBCE. Esta muestra asegura una correcta representación de la población general dado que se encuentra estratificada por cobertura de salud, correspondiendo a individuos no relacionados genéticamente y seleccionados al azar en centros asistenciales públicos y privados de la ciudad de Montevideo. Se realizó la extracción de ADN genómico a partir de sangre periférica empleando las técnicas de fenol-cloroformo y DNAzol (Promega). Se amplificó el exón 2 de los genes DRB1 (280 pb) y DQB1 (255 pb) mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando cebadores específicos. Los productos fueron hibridados con oligonucleótidos (sondas) mediante las técnicas de oligonucleótido-alelo específico reversa (“ASO reverse”)<sup>(16)</sup> y sembrado en puntos (“dot blot”)<sup>(17)</sup>. Los cebadores y las sondas empleadas para este estudio fueron definidos en el 11° y 12° Workshop Internacional de Histocompatibilidad. Se utilizó la nomenclatura oficial de los factores del sistema HLA del Comité de la Organización Mundial de la Salud. Para el análisis de los resultados se estimó el riesgo relativo (RR) por el método de Woolf<sup>(18)</sup> a partir de tablas de contingencia de 2 x 2 y la fracción etiológica (FE). A su vez, se utilizó el test de  $\chi^2$  para establecer la significancia estadística con las correcciones de Yates<sup>(19)</sup> y Fisher<sup>(20)</sup>.

## Resultados

Para mejor comprensión de los resultados los mismos serán presentados por grupo de HLA.

### 1. Alelos

1.1. DQB1. Los datos de frecuencia, RR, FE y de probabilidad de los alelos HLA-DQB1 son presentados en la tabla

1. El alelo DQB1\*0201 fue el más frecuente estando positivamente asociado a los pacientes. Por el contrario, se determinó que el alelo DQB1\*0501 se encuentra sólo en el grupo control.

1.2. DRB1. Los datos obtenidos a partir del análisis estadístico de los alelos HLA-DRB1 aparecen en la tabla 2. Se determinaron diferencias significativas para algunos de los alelos entre ambos grupos. El alelo DRB1\*03 fue el más frecuente en los pacientes lo que determinó una asociación positiva con la EC. Los alelos DRB1\*01, \*0103, \*08 y \*14 se encontraron únicamente en los controles, presentando este último alelo una diferencia significativa.

## II. Genotipos

II.1. DQB1. Se analizaron los genotipos DQB1 y los valores de las frecuencias obtenidos de los genotipos de los pacientes y los controles encontrándose diferencias en ambos grupos (datos no presentados). Para determinar la contribución de cada alelo en los genotipos, éstos se agruparon de acuerdo con los alelos DQB1 que presentaron valores de RR positivos mayores a cero. Los datos de frecuencia, RR, FE y valor de probabilidad de los genotipos DQB1 específicos agrupados aparecen en la tabla 3. El análisis estadístico muestra diferencias significativas en-

**Tabla 1.** Alelos HLA-DQB1 en pacientes y controles

Alelo DQB1 específico	FRECUENCIA (%)		RR (95% CI)	FE (%)	p
	Pacientes N (%)	Controles N (%)			
<b>DQB1*0501</b>	0	<b>8 (40,0)</b>	0	-	<b>0,0033</b>
DQB1*0602	2 (11,8)	4 (20,0)	0,5	-	NS
<b>DQB1*0201</b>	<b>16 (94,1)</b>	<b>12 (60,0)</b>	<b>10,7</b>	<b>85,3</b>	<b>0,0172</b>
DQB1*0301	2 (11,8)	6 (30,0)	0,3	-	NS
DQB1*0302	3 (17,6)	1 (5,0)	4,1	13,3	NS
DQB1*0305	0	2 (10,0)	0	-	NS
DQB1*0402	0	3 (15,0)	0,1	-	NS

RR: riesgo relativo. FE: fracción etiológica. NS: valor no significativo ( $p > 0,05$ ). p: valor de probabilidad

**Tabla 2.** Alelos HLA-DRB1 en pacientes y controles

Alelo DRB1 genérico	FRECUENCIA (%)		RR (95% CI)	FE (%)	p
	Pacientes N (%)	Controles N (%)			
DRB1*01	0	4 (20,0)	0,1	-	NS
DRB1*0103 (†)	0	1 (5,0)	0,4	-	NS
DRB1*15	1 (5,9)	3 (15,0)	0,4	-	NS
<b>DRB1*03</b>	<b>13 (76,5)</b>	<b>4 (20,0)</b>	<b>13,0</b>	<b>70,6</b>	<b>0,0007</b>
DRB1*04	3 (17,6)	1 (5,0)	4,1	13,3	NS
DRB1*11	4 (23,5)	4 (20,0)	1,2	4,4	NS
DRB1*13	1 (5,9)	3 (15,0)	0,4	-	NS
<b>DRB1*14</b>	0	<b>5 (25,0)</b>	<b>0,1</b>	-	<b>0,0356</b>
DRB1*07	8 (47,1)	8 (40,0)	1,3	11,8	NS
DRB1*08	0	4 (20,0)	0,1	-	NS

(†): alelo específico. RR: riesgo relativo. FE: fracción etiológica. NS: valor no significativo ( $p > 0,05$ ). p: valor de probabilidad

tre ambos grupos. Se determinó que el genotipo \*0201/\*0201 está positivamente asociado a los pacientes. Sin embargo, la presencia del alelo \*0201 en heterocigosis con otro alelo menos el \*0302 presentó diferencias significativas a favor del grupo control.

**II.2. DRB1.** Se analizaron los genotipos DRB1 presentes en los pacientes y los controles encontrándose diferencias significativas entre ambos grupos (datos no mostrados). Al igual que para los genotipos DQB1 a los efectos de observar la contribución de los alelos DRB1 se realizó una agrupación de los genotipos de acuerdo a los alelos que presentaron valores de RR positivos mayores a cero. En la tabla 4 se presentan los datos obtenidos mediante el análisis estadístico de los genotipos DRB1 genéricos agrupados. Los genotipos DRB1 \*03/\*03 y el \*03/\*07 muestran una asociación positiva con los pacientes.

### III. Combinación de haplotipos HLA-DQB1-DRB1

Se analizaron los haplotipos DQB1-DRB1 presentes en cada grupo (datos no consignados). Con la finalidad de obtener datos de los genotipos completos, se consideraron las combinaciones de los haplotipos DQB1-DRB1 teniendo en cuenta, para la agrupación, aquellos que presentaron valores de RR mayores a cero.

En la tabla 5 se muestran los datos del análisis de las distintas combinaciones de haplotipos. Se determinó que la combinación de haplotipos DQB1-DRB1 doble homocigota \*0201-\*03/\*0201-\*03 es la que está positivamente asociada a los pacientes. Asimismo la combinación de haplotipos que le sigue en el valor de la asociación es \*0201-\*03/\*0201-\*07 con un RR=10,4 (valor significativo).

**Tabla 3.** Distribución de los genotipos DQB1 en pacientes y controles

GENOTIPO DQB1 específico	FRECUENCIA (%)		RR (95% CI)	FE (%)	p
	Pacientes N (%)	Controles N (%)			
<b>*0201 / *0201</b>	<b>11 (64,7)</b>	<b>1 (5,0)</b>	<b>34,8</b>	<b>62,8</b>	<b>0,0001</b>
*0201 / *0302	2 (11,8)	1 (5,0)	2,5	7,1	NS
<b>*0201 / X<sup>a</sup></b>	3 (17,6)	<b>10 (50,0)</b>	0,2	-	<b>0,0353</b>
*0302 / X <sup>b</sup>	1 (5,9)	2 (10,0)	0,6	-	NS
<b>X / X</b>	0	<b>6 (30,0)</b>	0,1	-	<b>0,0167</b>

X<sup>a</sup>: cualquier alelo menos \*0201, \*0302. X<sup>b</sup>: cualquier alelo menos \*0201. X / X: cualquier genotipo menos los que fueron considerados. RR: riesgo relativo. FE: fracción etiológica. NS: valor no significativo (p>0,05). p: valor de probabilidad

**Tabla 4.** Distribución de los genotipos DRB1 en pacientes y controles

GENOTIPO DRB1 genérico	FRECUENCIA (%)		RR (95% CI)	FE (%)	p
	Pacientes N (%)	Controles N (%)			
<b>*03 / *03</b>	<b>4 (23,5)</b>	<b>0</b>	<b>13,7</b>	<b>21,8</b>	<b>0,0360</b>
<b>*03 / *07</b>	<b>6 (35,3)</b>	<b>1 (5,0)</b>	<b>10,4</b>	<b>31,9</b>	<b>0,0240</b>
*03 / *X <sup>a</sup>	3 (17,6)	2 (10,0)	1,9	8,5	NS
*07 / *11	2 (11,8)	1 (5,0)	2,5	7,1	NS
<b>*07 / *X<sup>b</sup></b>	0	<b>6 (30,0)</b>	0,1	-	<b>0,0167</b>
*04 / *X	2 (11,8)	1 (5,0)	2,5	7,1	NS
<b>X / X</b>	0	<b>9 (45,0)</b>	0	-	<b>0,0014</b>

X<sup>a</sup>: cualquier alelo menos \*03, \*07. X<sup>b</sup>: cualquier alelo menos \*03. X / X: cualquier genotipo menos los que fueron considerados. RR: riesgo relativo. FE: fracción etiológica. NS: valor no significativo (p>0,05). p: valor de probabilidad

**Tabla 5.** Distribución de las combinaciones de haplotipos DQB1-DRB1 en pacientes y controles

COMBINACIÓN HAPLOTIPO DQB1 - DRB1	FRECUENCIA (%)		RR (95% CI)	FE (%)	p
	Pacientes N (%)	Controles N (%)			
<b>*0201-*03 / *0201-*03</b>	<b>4 (23,5)</b>	<b>0</b>	<b>13,7</b>	<b>21,8</b>	<b>0,0360</b>
<b>*0201-*03 / *0201-*07</b>	<b>6 (35,3)</b>	<b>1 (5,0)</b>	<b>0,4</b>	<b>31,9</b>	<b>0,0240</b>
*0201-*03 / *0201-*11	1 (5,9)	0	3,7	4,3	NS
*0201-*03 / *0302-*04	1 (5,9)	0	3,7	4,3	NS
*0201-*11 / *0302-*04	1 (5,9)	0	3,7	4,3	NS
*0201-*03 / X	1 (5,9)	2 (10,0)	0,7	-	NS
*0201-*07 / X	2 (11,8)	3 (15,0)	0,8	-	NS
*0302-*04 / X	1 (5,9)	0	<b>3,7</b>	4,3	NS
<b>X / X</b>	<b>0</b>	<b>14 (70,0)</b>	<b>0</b>	-	<b>0,0001</b>

RR: riesgo relativo. FE: fracción etiológica. NS: valor no significativo ( $p > 0,05$ ). p: valor de probabilidad

## Discusión y conclusiones

El análisis de los datos obtenidos permitió determinar el riesgo relativo de cada alelo y establecer, de esta manera, las asociaciones de los HLA-DQB1 y -DRB1 con la EC en nuestro país. Como era de esperar, se encontraron diferencias significativas entre los alelos tipificados en la muestra de pacientes y el grupo control. Se lograron establecer las asociaciones de riesgo para la EC de acuerdo con los valores determinados de riesgo relativo (RR). Se tuvo en cuenta para esto que, si un determinado alelo es muy frecuente en pacientes y su valor de RR es superior a la unidad, se dice que este alelo se encuentra "asociado" con la enfermedad<sup>(21)</sup>. Los análisis realizados permitieron determinar que los alelos positivamente asociados con la EC son el DQB1\*0201 y DRB1\*03 para nuestro país. El aporte de estos alelos, tanto en homocigosis como en heterocigosis, mostró los valores de asociación más altos en los genotipos. Asimismo, se halló el haplotipo DQB1\*0201-DRB1\*03 en la mayoría de los pacientes con el valor de RR más alto y significativo. Cuando se analizaron las combinaciones de los haplotipos presentes en las muestras estudiadas \*0201-\*03 / \*0201-\*03 se detectó únicamente en los pacientes determinando el valor de riesgo más alto y significativo. Asimismo, la combinación \*0201-\*03 / \*0201-\*07 se caracterizó por un valor RR alto y significativo. Las otras combinaciones que implicaron cierta asociación con la EC (aunque sus valores no fueron significativos) poseen por lo menos los haplotipos \*0201-\*03 o \*0302-\*04, o ambos. Estos resultados nos indican que no sólo es importante la presencia de los alelos de

riesgo DQB1 y DRB1 sino también su combinación y la dosis de éstos. En general, los datos de otros países indican que la presencia del heterodímero DQ2 con el alelo DQB1\*0201 en heterocigosis está presente en la mayoría de los pacientes y que la homocigosis de este alelo potencia la susceptibilidad a la EC<sup>(22-24)</sup>. Para nuestro país, el efecto de la dosis génica del alelo DQB1\*0201 está bien marcado dado que su condición en homocigosis está presente en un alto porcentaje (64,7%) de los pacientes. Teniendo en cuenta los datos obtenidos sobre la frecuencia de los alelos DQB1 y DRB1 en nuestra población y los valores de desequilibrio originados por ligamiento<sup>(25)</sup> de los haplotipos determinados<sup>(26)</sup>, podemos inferir que en los pacientes estudiados de nuestro país están presentes tanto los alelos DRB1 como los heterodímeros DQ2 y DQ8 descritos en la literatura como asociados con la EC<sup>(27-31)</sup>. Además, esto indica al igual que lo publicado<sup>(32-35)</sup> que la presencia de uno de estos heterodímeros es necesaria para la manifestación de la susceptibilidad a la EC en nuestros pacientes.

El análisis de los alelos HLA mediante la utilización de técnicas moleculares como la PCR-ASO permitieron obtener datos más precisos que los determinados por métodos serológicos clásicos<sup>(36,37)</sup>. Con este trabajo, nuestro grupo está en condiciones de estudiar la capacidad de desarrollar la enfermedad en los familiares de los afectados y diferenciar entre los individuos que pueden ser considerados de alto riesgo y los individuos de bajo riesgo para el desarrollo de la EC.

Este trabajo también contribuye en la caracterización de los orígenes de nuestra población. Los resultados de la

comparación de nuestros datos con los obtenidos para muestras de otras poblaciones<sup>(38-40)</sup>, donde el componente mayoritario es también caucásico, indican que los alelos positivamente asociados con la EC son los mismos, variando únicamente la frecuencia y, por tanto, la distribución de los genotipos. Las diferencias determinadas indican que el contexto histórico y geográfico influye en la distribución de los alelos en nuestra población.

### Agradecimientos

Al doctor Leonardo Fainboim, jefe del Laboratorio de Inmunogenética del Hospital de Clínicas "José de San Martín" de la ciudad de Buenos Aires, quien brindó la posibilidad de tipificación de parte de la muestra. A la doctora Daniela de Armas por colaborar en la selección de los pacientes.

### Summary

Coeliac disease (EC) is an autoimmune disorder associated to particular genes of the HLA system. Certain DQ and DR class II HLA alleles are responsible for primary susceptibility. The frequency of the HLA alleles varies according ethnic groups. The current population of Uruguay shows different ethnic characteristics. At the time of preparing this paper, the association between these alleles and the disease was not known. Therefore, data was obtained from 37 people (patients and control) by molecular determination of DQ and DR class II HLA alleles. Relative risk (RR) and etiologic fraction (FE) for each DQB1-DRB1 allele, genotype and haplotype. DQB1\*0201 and DRB1\*03 are positively associated to patients (RR=10.7,  $p<0,001$  and RR=13,  $p<0,001$  respectively). When analyzing haplotypes, the combination of these alleles was positively associated to EC.

Despite the fact that our population is a result of diverse ethnic groups, alleles engaged in coeliac disease susceptibility are the same as those described in the literature yet frequency and risk associated to each allele vary.

### Résumé

La maladie coeliaque (EC) est une affection auto-immune qui est associée à des gènes spécifiques du système HLA. On a décrit que certaines variantes (allèles) HLA de type II DQ et DR sont impliqués dans la susceptibilité primaire de cette maladie. La fréquence des allèles HLA varie selon les groupes ethniques. La population actuelle de notre pays présente des caractéristiques ethniques particulières et, au moment de faire ce travail-ci, on ne connaissait pas la relation de ces allèles avec la maladie. On présente alors,

les données obtenues par détermination moléculaire d'allèles HLA de type II de chaîne beta DQ et DR dans un échantillon de 37 individus (patients et contrôles). On a calculé le risque relatif (RR) et la fraction étiologique (FE) pour chaque allèle, génotype et haplotype DQB1-DRB1. On a déterminé que les allèles DQB1\*0201 et DRB1\*03 sont positivement associés aux patients (RR=10,7,  $p<0,001$  et RR = 13,  $p<0,001$  respectivement). Lorsqu'on a réalisé les haplotypes, c'est précisément la combinaison de ces allèles celle qui a présenté une association positive avec la EC.

Ces résultats ont permis d'établir que, quoiqu'il existe un mélange ethnique dans notre population, les allèles impliqués dans la susceptibilité de la maladie coeliaque sont les mêmes que ceux décrits à la littérature, avec des variantes de fréquence et par conséquent du risque associé à chaque allèle.

### Bibliografía

1. **Dicke WK, Weijers HA, Van De Kamer JH.** Coeliac disease, presence in wheat of a factor having deleterious effect in cases of coeliac disease. *Acta Paediatr* 1953; 42:34-42.
2. **Paulley JW.** Observations on the aetiology of idiopathic steatorrhea. *Br Med J* 1954; 2:1318-21.
3. **Cooke WT, Homles GK.** Coeliac disease, inflammatory bowel disease, and food intolerance. In: Lessof M. Ed. *Clinical Reactions to Food*. Londres: John Wiley, 1983: 181-205.
4. **Bergy NO, Lindberg T.** Incidence of coeliac disease and transient gluten intolerance in children in a Swedish urban community. *Acta Paed Scand* 1979; 68:397-400.
5. **Arthur LH, Langman MJ.** Prevalence of coeliac disease in Derby. In: Mc Coonell, RB, ed. *The genetics of coeliac disease*. Lancaster: MTP Press, 1981: 15-7.
6. **Trier JS.** Celiac sprue. *N Engl J Med* 1991; 325:1709-17.
7. **Logan RF.** Epidemiology of coeliac disease. In: Marsh MN ed. *Coeliac Disease*. Oxford: Oxford University, 1992: 192-208.
8. **Robinson DC, Watson AJ, Wyatt EH, Marks JM, Roberts DF.** Incidence of small-intestinal mucosal abnormalities and of clinical coeliac disease in the reactives of children with coeliac disease. *Gut* 1971; 12:789-93.
9. **Houlston RS, Tomlison IP, Ford D, Seal S, Morossy AM, Ferguson A, et al.** Linkage analysis of candidate regions for coeliac disease genes. *Hum Mol Genet* 1997; 6(8):1335-9.
10. **Sollid LM, Thorsby E.** HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993; 105:910-22.
11. **Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS.** *Cellular and Molecular Immunology*. 3a ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999: 104-23.
12. **Spurkland A, Ingvarsson G, Falk E, Knutsen I, Sollid LM, Thorsby E.** Dermatitis herpetiformis and celiac disease are both primarily associated to the HLA-DQ ( $\alpha 1^*0501, \beta 1^*02$ ) or the HLA-DQ ( $\alpha 1^*03, \beta 1^*0302$ ) heterodimers. *Tissue Antigens* 1997; 49:29-31.
13. **Polanco I, Jasinski C, De Rosa S.** Coeliac disease in Argentina and Uruguay. In: Auricchio S, Visakorpi JK eds. *Common food intolerances: Epidemiology of coeliac disease*. *Dyn Nutr Res*. Basel: Karger, 1992: 57-63.
14. **Instituto Nacional de Estadística (Uruguay).** VII Censo

- General de Población. In: Anuario 1999-2000. Uruguay: Montevideo: El Observador, 1996: 131-134.
15. **Sans M, Salzano FM, Chakraborty R.** Historical genetics in Uruguay: Estimates of biological origins and their problems. *Hum Biol* 1997; 69:161-70.
  16. **Buysse I, Decorte R, Baens M, Cuppens H, Semana G, Emonds MP, et al.** Rapid DNA typing of class II HLA hybridization. *Tissue Antigens* 1993; 41:1-14.
  17. **Saiki RK, Bugawan TL, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA.** Analysis of enzymatically amplified b globin and HLA-DQ $\alpha$  DNA with allelic-specific oligonucleotide probe. *Nature* 1986; 324:163-6.
  18. **Woolf B.** On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet* 1955; 19:251-3.
  19. **Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF.** Estadística y probabilidad. Genética de las poblaciones humanas. Barcelona: Omega, 1981: 965 pp.
  20. **Tiwari JL, Terasaki PI.** HLA and disease associations. New York: Springer Verlag, 1985: 472 pp.
  21. **Fernández-Arquero M, Figueredo MA, Maluenda C, de la Concha EG.** HLA-linked genes acting as additive susceptibility factors in celiac disease. *Hum Immunol* 1995; 42: 295-300.
  22. **Ploski R, EK J, Thorsby E, Sollid M.** On the HLA-DQ ( $\alpha 1^*0501/\beta 1^*0201$ ) associated susceptibility in celiac disease: A possible gene dosage effect of DQB1\*0201. *Tissue Antigens* 1993; 41:173-7.
  23. **Arranz E, Telleria JJ, Sanz A, Martin JF, Alonso M, Calvo C, et al.** HLA-DQA1\*0501 and DQB1\*02 homozygosity and susceptibility in Spanish coeliac patients. *Exp Clin Immunogenet* 1997; 14(4):286-90.
  24. **Balas A, Vicario JL, Zambrano A, Acuna D, García-Novo D.** Absolute linkage of celiac disease and dermatitis herpetiformis to HLA-DQ. *Tissue Antigens* 1997; 50(1):52-6.
  25. **Tomlinson IP, Bodmer WF.** The HLA system the analysis of multifactorial genetic disease. *Tig* 1995; 11(12):493-8.
  26. **Poggio R.** Tipificación molecular de los alelos HLA de clase II DRB1 y DQB1: su frecuencia y asociación con la Enfermedad Celíaca en nuestro país. Tesis para acceder a la Maestría en Ciencias Biológicas. Montevideo: PEDECIBA 2000.
  27. **Spurkland A, Sollid LM, Ronningen KS.** Susceptibility to develop celiac disease is primarily associated with HLA-DQ alleles. *Hum Immunol* 1990; 29:157-65.
  28. **Sollid LM, Thorsby E.** HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993; 105:910-22.
  29. **Lundin KE, Scott H, Hansen T, Paulsen G, Halstensen TS, Fausa O, et al.** Gliadin specific HLA-DQ ( $\alpha 1^*0501, \beta 1^*0201$ ) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients. *J Exp Med* 1993; 178:187-96.
  30. **Polvi A, Arranz E, Fernández-Arquero M, Collin P, Maki M, Sanz A, Calvo C, et al.** HLA-DQ2 negative celiac disease in Finland and Spain. *Hum Immunol* 1998; 59(3):169-75.
  31. **Fernández-Arquero M, Caldes T, Casado E, Maluenda C, Figueredo MA, de la Concha EG.** Polymorphism within the HLA-DQB1\*02 promoter associated with susceptibility to coeliac disease. *Eur J Immunogenet* 1998; 25(1):1-3.
  32. **Lundin KE, Sollid LM, Qvigstad E.** T lymphocyte recognition of celiac disease associated cis -or trans- encoded HLA-DQ  $\alpha/\beta$  heterodimer. *J Immunol* 1990; 145:136-41.
  33. **Lundin KE, Gjertsen HA, Scott H, Sollid LM, Thorsby E.** Function of DQ2 and DQ8 as HLA susceptibility molecules in celiac disease. *Hum Immunol* 1994; 41:24-7.
  34. **van de Wal Y, Kooy YM, van Veelen PA, Pena SA, Mearin LM, Molbeng O, et al.** Small intestinal T cells of celiac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(17): 1050-4.
  35. **van de Wal Y, Kooy Y, van Veelen P, Vader W, Koning F.** Coeliac disease: it takes three to tango! *Gut* 2000; 46:734-7.
  36. **Erlich HA, Bugawan T.** HLA Class II gene polymorphism: DNA typing, evolution, and relationship to Disease susceptibility. In: Erlich HA, ed. PCR Technology: Principles and applications for DNA amplification. Stockton: 1989: 193-208.
  37. **Vicario JL, Martinezlaso J, Corell A, Martinvilla JM, Morales P, Lledo G, et al.** Comparison between HLA-DRB and DQ DNA sequences and classic serological markers as type-1 (Insulin-Dependent) Diabetes-Mellitus predictive risk markers in the spanish population. *Diabetología* 1992; 35(5): 475-81.
  38. **Hall MA, Mazzilli MC, Satz ML, Barboni F, Bartova A, Brunner G, et al.** Coeliac disease study. In: Tsuji K, Aizama M and Sasazuki T eds. HLA 1991. Proceedings of the 11<sup>th</sup> International Histcompatibility Workshop and Conference. Oxford: Oxford University, 1992: 722-9.
  39. **Meddeb-Garnaoui A, Zeliszewski D, Mougnot JF, Djilali-Saiah I, Caillat-Zucman S, Dormoy A, et al.** Reevaluation of the Relative Risk for Susceptibility to Celiac Disease of HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1, -DPB1, and -TAP2 Alleles in a French Population. *Hum Immunol* 1995; 43:190-9.
  40. **Fernández-Arquero M, Figueredo MA, Maluenda C, de la Concha EG.** HLA-linked genes acting as additive susceptibility factors in celiac disease. *Hum Immunol* 1995; 42: 295-300.